



Estudio cinético de la degradación térmica de antocianinas en pulpas y jugos de frambuesa

Rossi Y.E.⁽¹⁾, Moroni F.⁽¹⁾, Badin E.⁽¹⁾, Massolo F.⁽²⁾⁽³⁾, Rodoni L.M.⁽²⁾⁽³⁾, Vicente A.R.⁽²⁾⁽³⁾, Lespinard A.R.⁽¹⁾

(1) Centro de Investigaciones y Transferencia de Villa María (CIT VM) - CONICET Universidad Nacional de Villa María (UNVM). Instituto A.P. de Ciencias Básicas y Aplicadas. Campus Universitario. Villa María, Córdoba, Argentina.

(2) Centro de Investigación y Desarrollo en Criotecnología de Alimentos (CIDCA) CONICET - Facultad de Ciencias Exactas, Universidad Nacional de La Plata, Buenos Aires, Argentina.

(3) Laboratorio de Investigación en Productos Agroindustriales (LIPA), Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales, Universidad Nacional de La Plata, Buenos Aires, Argentina.

Dirección de e-mail: yanirro@hotmail.com

Resumen

Las frambuesas poseen alto valor nutricional debido a su elevado contenido de antocianinas que le confieren además su color característico. El procesamiento de estos frutos para la obtención de pulpas y jugos, y la posterior aplicación de un tratamiento térmico de conservación, resulta en una de las alternativas para generar un producto inocuo, de mayor estabilidad y valor agregado. Sin embargo, durante el procesamiento térmico, el contenido de antocianinas se ve afectado por el calor, y consecuentemente también sus propiedades nutricionales. El objetivo de este trabajo fue evaluar la estabilidad térmica de antocianinas presentes en pulpas y jugos de frambuesas y obtener modelos cinéticos que describan su variación con la temperatura y el tiempo de proceso. Para ello, muestras de pulpa y de jugo diluido al 50% con agua se sometieron a calentamiento en baño de agua a 70, 80, 90 y 100°C a diferentes tiempos en un rango de 0 a 180 minutos. Las muestras tratadas fueron luego analizadas espectrofotométricamente para determinar el contenido de antocianinas. Los resultados obtenidos mostraron que la variación de la concentración de antocianinas con el tiempo de proceso siguió una cinética de primer orden para ambos productos. En pulpa, la constante de velocidad de degradación (k) aumentó de 0,0017 a 0,0056 min^{-1} y el tiempo de vida media ($t_{1/2}$) disminuyó de 398,28 a 123,75 min con el incremento de temperatura de 70 a 100°C. En jugo, los valores obtenidos para k de 0,0015 a 0,0092 (min^{-1}), mientras que el $t_{1/2}$ se redujo de 462,00 a 75,33 min para dicho incremento de temperatura. A su vez la dependencia de k con la temperatura fue descrita por la Ley de Arrhenius obteniéndose una energía de activación de 42,73 y 62,34 kJ/mol para pulpa y jugo, respectivamente. Los resultados obtenidos en este estudio podrían ser de utilidad para la industria con el fin de



optimizar los procesos y minimizar las pérdidas de las propiedades nutraceuticas en jugos y pulpas de frambuesa.

Palabras clave: frambuesa, antocianinas, tratamiento térmico, cinética de degradación

Introducción

Las frambuesas (*Rubus idaeus* 'Autumn Bliss') poseen alto valor nutricional debido a su elevado contenido de compuestos fenólicos a los cuales se los reconoce como agentes quimiopreventivos. Los altos contenidos de estos compuestos reducen la propensión a enfermedades cardíacas, cerebrovasculares y disminuyen la tasa de mortalidad por cáncer (Seeram, 2008). Entre estos compuestos se encuentran las antocianinas, que le confieren además su color característico. En la actualidad hay un interés creciente en los antioxidantes, en particular en aquellos que previenen los efectos nocivos de los radicales libres en el cuerpo humano, existiendo una preferencia por aquellos provenientes de fuentes naturales por sobre los de origen sintético.

Por su parte, la estabilidad química de las antocianinas ha sido evaluada en numerosos estudios recientes debido a sus variadas aplicaciones, sus efectos beneficiosos y su uso como alternativa a los colorantes artificiales en los alimentos. De estos estudios se desprende que la estabilidad de antocianinas depende de la temperatura de procesamiento, pero también es influenciada por las propiedades del producto resultante y por condiciones de proceso tales como: pH, temperatura de almacenamiento, estructura química y concentración de antocianinas, luz, oxígeno, enzimas, iones metálicos, etc. (Rein, 2005). Por lo tanto, las combinaciones tiempo-temperatura, el tipo de fruto y el mantenimiento de la actividad de la enzima después del tratamiento puede influir negativamente en la funcionalidad de los compuestos fenólicos por destrucción de ácidos fenólicos y antocianinas (García-Parra et al., 2014). Además, la degradación térmica de antocianinas afecta el color de los vegetales, un atributo particularmente apreciado por los consumidores.

En la industria de los alimentos, el procesamiento de frambuesas para la obtención de pulpas y jugos, y la posterior aplicación de un tratamiento térmico de conservación, resulta en una de las alternativas para generar un producto inocuo, de mayor estabilidad y valor agregado. Sin embargo, durante el procesamiento térmico, las características organolépticas y nutricionales del alimento se ven afectadas, entre ellas, el contenido de antocianinas y consecuentemente sus propiedades nutraceuticas (Verbeyst et al., 2011).

El objetivo de este trabajo fue evaluar la estabilidad térmica de antocianinas presentes en pulpas y jugos de frambuesa y obtener modelos cinéticos que describan su variación con la temperatura y el tiempo de proceso.



Materiales y Métodos

Materia prima: Se utilizaron frutos de frambuesa (*Rubus idaeus* 'Autunm Bliss') provistos por la empresa "Yuco Frutos", de Villa María (Córdoba), los cuales fueron procesados para obtener la pulpa. Para la obtención del jugo, a la pulpa obtenida se la diluyó al 50 % con agua y se le adicionó 70 g kg⁻¹ de sacarosa.

Tratamientos: muestras de 6 ml de pulpa y de jugo fueron colocadas en tubos de vidrio de 10 ml y luego sometidas a calentamiento en baño de agua termostatzado a temperaturas de 70, 80, 90 y 100 °C y a diferentes tiempos (0-180 min).

Antocianinas: 1 gramo de tejido fue extraído con 5 ml de metanol conteniendo 1% v/v HCl. La mezcla se centrifugó a 5500 x g durante 20 min a 4 °C, y se midió la absorbancia del sobrenadante obtenido a 515 nm utilizando un espectrofotómetro (Shimadzu Corporation, Modelo UV Mini-1240, Japón). El contenido de antocianinas se calculó usando el coeficiente de extinción ϵ : antocianina mayoritaria de la frambuesa (cianidina) = 26900 M⁻¹ cm⁻¹ (Martínez-Cruz et al., 2011). Los valores se expresaron en mg L⁻¹ considerando la absortividad de la cianidina (0,082 L mg⁻¹ cm⁻¹).

Análisis Estadístico: Las experiencias se realizaron por duplicado. Los análisis de correlación y el cálculo de las respectivas constantes se realizaron utilizando el programa Microsoft Excel® 2013.

Resultados y Discusión

En la **figura 1** se presentan las variaciones de la retención del contenido de antocianinas en pulpa de frambuesa durante los tratamientos térmicos a las diferentes temperaturas ensayadas. En la misma se puede observar que la velocidad de degradación de antocianinas aumenta con la temperatura y disminuye a medida que la concentración de las mismas se va reduciendo con el tiempo de proceso. Las reducciones en la concentración antociánica, para un tiempo de proceso de 180 min, fueron de 25,6%, 37,8%, 55,2% y 62,4% para temperaturas de 70, 80, 90 y 100°C, respectivamente

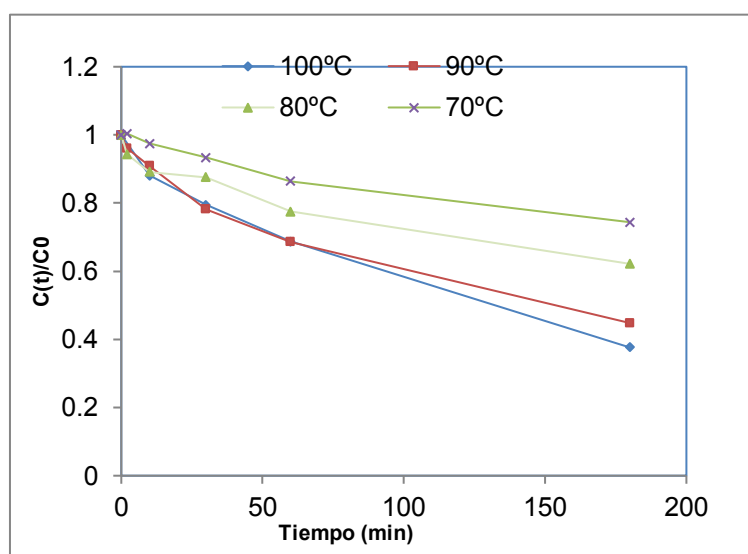


Figura 1: Variación de la retención de antocianinas con el tiempo de calentamiento en pulpa de frambuesa.



Por su parte la degradación de antocianinas en el jugo de frambuesa presentó, para las diferentes temperaturas analizadas, un comportamiento similar al de la pulpa (ver **figura 2**), siendo la reducción en la concentración de antocianinas mayor a medida que el calentamiento progresa e intensificándose dicha reducción con la temperatura. Para calentamientos a 70, 80, 90 y 100°C durante 180 min., se registraron disminuciones en el contenido de antocianinas de 22,2%, 45,0%, 53,0% y 80,9%, respectivamente.

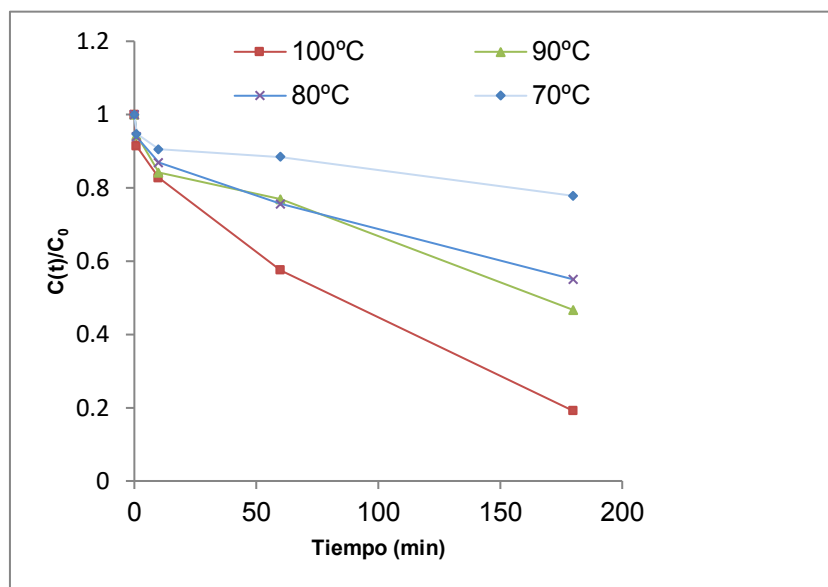


Figura 2: Variación de la retención de antocianinas con el tiempo de calentamiento en pulpa de frambuesa.

De la comparación de las **figuras 1 y 2**, se observa que la mayor diferencia en las pérdidas de antocianinas entre pulpa y jugo se establece a 100°C para 180 min. de tratamiento térmico, siendo en pulpa del 62,4% y en jugo del 80,9%, mientras que a temperaturas de 70, 80 y 90°C los valores obtenidos presentaron similitud.

Del análisis de las **figuras 1 y 2**, se identificó que la retención de antocianinas en función del tiempo sigue una cinética de primer orden (**ecuación 1**) para las diferentes temperaturas, tanto para la pulpa como para jugo de frambuesa. Los altos valores obtenidos para los coeficientes de correlación (R^2), presentados en la **tabla 1**, demuestran la bondad del ajuste del modelo cinético a los datos experimentales. Estos resultados concuerdan con los encontrados por otros autores en trabajos previos (Cemeroglu et al., 1994; Garzon y Wrolstad, 2002; Harbourne et al., 2008; Markakis et al., 1956; Verbeyst et al., 2010; Wang y Xu, 2007), quienes describieron la estabilidad térmica de antocianinas a través de modelos de primer orden. El modelo fue empleado para calcular las constantes de velocidad de degradación térmica de antocianinas (k_T) y a partir de ellas el tiempo de vida media ($t_{1/2}$) (**ecuación 2**), (**tabla 1**):

$$\ln \left(\frac{C_t}{C_0} \right) = -k_T \times t \quad (1)$$

$$t_{1/2} = -\frac{\ln 0,5}{k_T} \quad (2)$$



donde C_0 y C_t corresponden a las concentraciones de antocianinas iniciales y luego de un tiempo (t) de iniciado el tratamiento térmico de las muestras, respectivamente.

En el caso de la pulpa, la constante de velocidad de degradación incremento de 0,0017 a 0,0056 min^{-1} al aumentar la temperatura de 70 a 100°C, mientras que para el jugo dicha constante varió de 0,0015 a 0,0092 min^{-1} para el mismo aumento de temperatura. Por su parte los valores de $t_{1/2}$ resultaron mayores para el jugo en comparación con la pulpa, para todas las temperaturas excepto a 100°C. En este sentido, Zhang et al. (2012) encontraron que los valores de vida media de la degradación antociánica en jugo de mora a 90 °C vario de 231 min a 298,2 min. Por su parte, Cemeroglu et al. (1994) informaron que el valor $t_{1/2}$ de la degradación de antocianina a 80°C en el jugo de cereza fue 486 min. Dichos resultados para los valores $t_{1/2}$ de la degradación de antocianinas en jugo fueron mayores, en comparación con el jugo de frambuesa analizado en el presente estudio.

Por otro lado, Cemeroglu et al. (1994) concluyeron que la degradación térmica de los compuestos polifenólicos parece ser más rápida en más muestras concentradas, probablemente debido a un mayor contenido de sólidos y moléculas que reaccionan (oxígeno), que se encuentran más cercanas y aceleran la velocidad de reacciones químicas.

El efecto de la temperatura sobre las constantes de velocidad de degradación puede ser expresada por medio de la ecuación de Arrhenius (**ecuación 3**), en la cual la dependencia de k_T con la temperatura es cuantificada por medio de la energía de activación E_a (kJ mol^{-1}). Siendo k_{ref} la constante de velocidad de degradación de referencia y R la constante universal de los gases ($8,31 \times 10^{-3} \text{ kJ mol}^{-1} \text{ K}^{-1}$) y T la temperatura en grados kelvin.

$$\ln(k_T) = \ln(k_{ref}) - \frac{E_a}{RT} \quad (3)$$

Para la determinación de dichos parámetros se graficó el $\ln k_T$ vs. T^{-1} (ver **figura 3**) y por medio de un análisis regresión lineal se estimó la energía de activación (E_a) a partir de su pendiente y la constante de velocidad de degradación de referencia (k_{ref}) a través de la ordenada al origen.

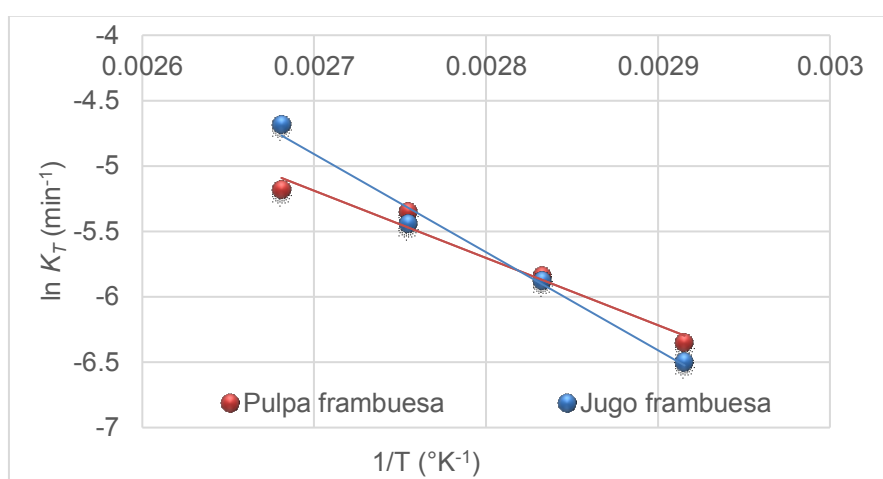


Figura 3. Dependencia de la constante de velocidad de degradación de antocianinas con la temperatura para jugo y pulpa de frambuesa.

Las constantes cinéticas de degradación de antocianinas para pulpa y jugo de frambuesa se ajustaron adecuadamente mediante la relación de Arrhenius ($R^2 > 0,98$), presentando mayor energía de activación (E_a) el jugo por sobre la pulpa, siendo respectivamente E_a 62,34 y E_a 42,73 (KJ mol^{-1}), (**tabla 1**). Esto indicaría una mayor dependencia de la degradación de antocianinas con la temperatura para el jugo, en comparación con la pulpa.

Tabla 1. Parámetros cinéticos de degradación térmica de antocianinas de jugo y pulpa de frambuesa. Entre paréntesis se indica el coeficiente de correlación (R^2).

Muestra	T(°C)	K_T (min^{-1}) (R^2)	$t_{1/2}$ (min)	E_a (kJ/mol)	R^2
<i>Pulpa de frambuesa</i>	100	0,0056 (0,980)	123,75	42,73	0,967
	90	0,0047 (0,943)	145,89		
	80	0,0029 (0,855)	238,97		
	70	0,0017 (0,958)	398,28		
<i>Jugo de frambuesa</i>	100	0,0092 (0,998)	75,33	62,34	0,986
	90	0,0043 (0,993)	161,16		
	80	0,0028 (0,962)	247,50		
	70	0,0015 (0,955)	462,00		

Conclusiones

Los resultados obtenidos mostraron que la variación de la concentración de antocianinas con el tiempo de proceso siguió una cinética de primer orden para jugo y pulpa de frambuesas. Las constantes de la velocidad de degradación térmica de



antocianinas obtenidas mostraron que la temperatura tiene un efecto acelerador de dicha velocidad para ambos productos. La dependencia de las constantes de velocidad de degradación con la temperatura fue descripta adecuadamente por medio de la Ley de Arrhenius. Las energías de activación obtenidas indicaron una mayor dependencia de la degradación de antocianinas con la temperatura para el jugo, en comparación con la pulpa. Los valores obtenidos para las energías de activación mostraron que estos compuestos bioactivos son sensibles a la temperatura y que leves cambios en las condiciones de procesamiento pueden resultar en la pérdida de su funcionalidad. Los resultados obtenidos en este estudio podrían ser de utilidad para la industria con el fin de optimizar los procesos y minimizar las pérdidas de las propiedades nutraceuticas en jugos y pulpas de frambuesa.

Agradecimientos

Los autores agradecen a “Yuco Frutos” quien proveyó los frutos de frambuesa y al Proyecto PIO Pablo Yaryura PIO 20320150100008CO RD 4800. Agregado de valor en origen a la producción frutihortícola de la región de Villa María. Evaluación y desarrollo de estrategias de manejo pre y poscosecha.

Referencias

- CEMEROGLU B, VELIOGLU S, ISIK S. (1994). Degradation kinetics of anthocyanins in sour cherry juice and concentrate, en: *Journal of Food Science*, 59(6):1216– 1218.
- GARCÍA-PARRA J, GONZALEZ-CEBRINO F, CAVA R, RAMÍREZ R. (2014). Effect of a different high pressure thermal processing compared to a traditional thermal treatment on a red flesh and peel plum puree, en: *Innov Food Sci. Emerg. Technol.*, 26:26-33.
- GARZON G, WROLSTAD R. (2002). Comparison of the stability of pelargonidin- based anthocyanins in strawberry juice and concentrate, en: *Journal of Food Science*, 67(4):1288-1299.
- HARBOURNE N, JACQUIER JC, MORGAN DJ, LYNNG JG. (2008). Determination of the degradation kinetics of anthocyanins in a model juice system using isothermal and non-isothermal methods, en: *Food Chemistry*, 111(1):204-208.
- MARKAKIS, P., LIVINGSTON, G.E., FELLERS, C.R., 1956. Quantitative aspects of strawberry pigment degradation, en: *Food Research* 22 (2), 117-130.
- MARTÍNEZ-CRUZ N, ARÉVALO-NIÑO K, VERDE-STAR M, MORALES C. (2011). Antocianinas y actividad anti radicales libres de *rubus adenotrichus* Schltdl (zarzamora), en: *Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas*, 42:66-71.
- REIN M. (2005). Copigmentation Reactions and Color Stability of Berry Anthocyanins. University of Helsinki, Helsinki, pp.10-14.
- SEERAM N. (2008). Berry Fruits for Cancer Prevention: Current Status and Future Prospects, en: *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56:630-635.



VERBEYST L, OEY I, VAN DER PLANCKEN I, HENDRICKX M, VAN LOEY A. (2010). Kinetic study on the thermal and pressure degradation of anthocyanins in strawberries, en: *Food Chemistry*, 123(2):269–274.

VERBEYST L, VAN DER PLANCKEN I, HENDRICKX M, VAN LOEY A. (2011). Anthocyanin degradation kinetics during thermal and high pressure treatments of raspberries, en: *Journal of Food Engineering*, 105:513-521.

WANG W, XU S. (2007). Degradation kinetics of anthocyanins in blackberry juice and concentrate, en: *Journal of Food Engineering*, 82(3):271–275.